

UJI AKTIVITAS TOKSISITAS EKSTRAK DAUN *Dendrophthoe praelonga* (Blume) Miq. DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*

*(Toxicity Activity Test of Leaves Extract *Dendrophthoe praelonga* (Blume) Miq. Using Brine Shrimp Lethality Test Method)*

¹Gita Angelia, ¹M. Irfan Junaedi, & ¹Boima Situmeang

¹Jurusan Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, Banten

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai uji toksisitas pada daun benalu petai (*Dendrophthoe praelonga* (Blume) Miq). Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan efek toksisitas terhadap hewan uji *Artemia salina* Leach pada daun benalu petai. Metode yang digunakan yaitu daun benalu petai dimaserasi bertingkat dengan heksana, etil asetat dan etanol. Hasil maserasi disaring untuk mendapatkan filtrat, selanjutnya dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak kasar. Ketiga ekstrak tersebut diuji dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) untuk mengetahui efek toksisitasnya. Ekstrak etanol memiliki efek toksisitas yang tinggi dengan nilai LC_{50} 3,97 ppm.

Kata kunci: toksisitas, *Dendrophthoe praelonga* (Blume) Miq.

ABSTRACT

*Research on the analysis of toxicity test in the leaves of benalu petai (*Dendrophthoe praelonga* (Blume) Miq.) had been done. The purpose of this study was to prove the effect of toxicity on *Artemia Salina* Leach in benalu petai leaves. Multistage maceration method had been done to obtained fraction extract of hexane, ethyl acetate, and ethanol. Results of maceration was filtered to get filtrate, then it was evaporated to get crude extract. Those extracts were tested by the brine shrimp lethality test (BSLT) method to determine the effect of their toxicity. Ethanol fraction extract has the highest toxicity effect with LC_{50} value of 3.97 ppm.*

Keywords: toxicity, *Dendrophthoe praelonga* (Blume) Miq.

1. PENDAHULUAN

Benalu merupakan tumbuhan parasit yang hidup pada suatu inang. Benalu mendapatkan nutrisi dengan cara menyerap sari makanan dan mineral dari tanaman inangnya. Berbagai spesies benalu banyak terdapat di Indonesia, masyarakat umum

E-mail: jurnal.itekima@stakc.ac.id

lebih mengenal benalu berdasarkan tumbuhan inang tempat tumbuhnya seperti benalu teh, benalu mangga, dan lain-lain.

Saat ini belum banyak penelitian mengenai tanaman (*Dendrophthoe praelonga* (Blume) Miq.) atau disebut dengan benalu petai. Benalu petai banyak ditemukan di alam karena masyarakat belum mengetahui manfaatnya dan dianggap tidak bermanfaat sehingga untuk mendapatkannya tidak sulit. Keunikan dari benalu ini selain sifatnya sebagai parasit yang mengganggu tumbuhan inang juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan. Penelitian ini bertujuan menganalisis aktivitas toksisitas benalu petai terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT. Penelitian yang intensif perlu dilakukan sehingga potensi benalu sebagai bahan baku obat dapat lebih dikembangkan.

2. BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia benalu petai, n-heksana, etil asetat, etanol, pereaksi *Bourchadat*, pereaksi *Meyer*, pereaksi *Dragendorf*, HCl 2N, HCl 37%, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ pekat, serbuk Mg, aquades, air laut, larva *Artemia salina* Leach. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, alat gelas, pipa kapiler, pipet tetes, *blender*, *rotary evaporator*, spektrofotometer, pipet mikro.

Pengumpulan dan Penyediaan Bahan Penelitian

Simplisia yang digunakan adalah daun benalu petai (*Dendrophthoe praelonga* (Blume) Miq). Daun tersebut diambil dan dikumpulkan pada bulan Desember 2017 dari Kota Cilegon, Banten. Daun tersebut kemudian dibersihkan, dianginkan, dikeringkan pada suhu ruang dan dibuat serbuk.

Skring Fitokimia

Pengujian Golongan Alkaloid

Sebanyak 10 mg sampel uji ditambah mL HCl 2N dan 9 mL aquadest kemudian campuran dipanaskan di dalam penangas air dan didinginkan kemudian massa yang

tidak larut dipisahkan dari filtratnya. Sejumlah 1 mL filtrat ditambah 2 tetes pereaksi *Bourchadat*. Jika terbentuk endapan coklat sampai hitam menandakan bahwa sampel mengandung alkaloid. Dalam wadah yang berbeda 1 mL filtrat ditambah 2 tetes pereaksi *Meyer*, jika terbentuk endapan menggumpal berwarna kuning atau putih yang larut dalam MeOH menandakan adanya senyawa alkaloid. Kemudian dalam wadah uji yang berbeda diambil 1 mL filtrat dan ditambahkan 2 tetes pereaksi *Dragendorf*, terbentuk endapan berwarna jingga coklat menandakan adanya alkaloid.

Pengujian Golongan Flavonoid

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dengan 4 mL etanol. Sejumlah 2 mL sampel uji tersebut ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 0,4 mL campuran HCl 37% dan etanol 95% (1:1). Terbentuknya warna merah jingga sampai merah ungu menandakan adanya flavonoida, sedangkan jika terbentuk warna kuning jingga menunjukkan adanya kalkon, flavon, dan auron dalam sampel uji.

Pengujian Golongan Tanin

Sebanyak 10 mg ekstrak ditambah dengan 15 mL aquadest panas. Campuran kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit. Setelah 5 menit campuran kemudian disaring, filtrat ditambahkan dengan 5 tetes FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna hijau violet menunjukkan adanya tanin dalam sampel uji.

Pengujian Golongan Saponin

Sebanyak 10 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 150 mL aquadest panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuknya busa pada lapisan atas yang stabil menunjukkan adanya saponin dalam sampel uji.

Penetasan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Wadah disiapkan untuk penetasan telur udang *Artemia salina* Leach. Lampu untuk menghangatkan dalam penetasan ditempatkan di dekat wadah. Air laut dimasukkan ke dalam wadah kemudian dimasukkan 50 mg telur udang untuk

ditetaskan. Wadah tersebut ditutup menggunakan alumunium foil dan lampu dinyalakan selama 48 jam untuk menetaskan telur. Larva udang yang akan diuji diambil menggunakan pipet.

Prosedur Uji Toksisitas Metode BSLT

Larutan uji ekstrak kasar n-heksana, etil asetat, dan metanol dari daun benalu petai dilarutkan dalam air laut dengan konsentrasi setelah pengenceran masing-masing menjadi 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Setelah 48 jam, air laut yang berisi 10-15 ekor larva udang dimasukkan ke dalam vial berikut larutan uji dengan konsentrasi pada setiap vial yaitu 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Sebagai kontrol dipakai air laut yang berisi 10-15 ekor larva udang dengan konsentrasi yang sama. Setelah dibiarkan selama 24 jam, dihitung jumlah udang yang masih hidup dan sudah mati.

Data pengujian BSLT dianalisis menggunakan metode Sam. Berdasarkan perhitungan jumlah larva yang mati dan masih hidup. Tingkat kematian atau (%) mortalitas diperoleh dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati dibagi dengan jumlah total larva. Nilai LC_{50} kemudian diperoleh dengan cara menghitung menurut rumus $y = a + bx$. Harga y menyatakan larva udang yang mengalami kematian sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Nilai a dan b diperoleh dengan perhitungan menggunakan rumus regresi linear berdasarkan data dari tiga titik konsentrasi yang digunakan. Harga x yang diperoleh merupakan konsentrasi larutan yang menyebabkan kematian terhadap 50% larva. Ekstrak dinyatakan aktif apabila nilai LC_{50} lebih kecil dari 1000 ppm (Lisdawati *et al.*, 2006).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Komponen yang terdapat dalam ekstrak etanol daun benalu petai dianalisis golongan senyawanya dengan tes uji warna dengan beberapa pereaksi untuk golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

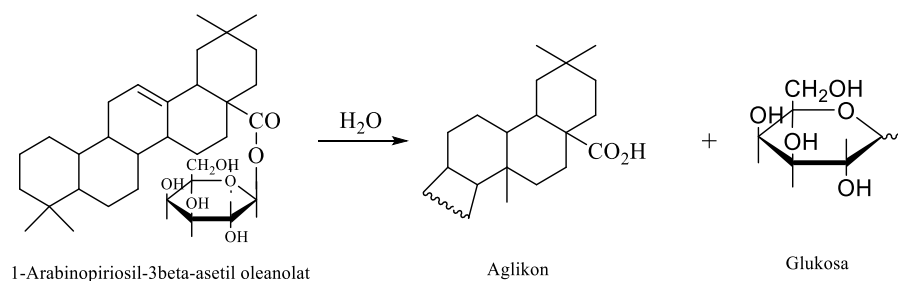
Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun benalu petai

Parameter Uji	Hasil Skrining Fitokimia		
	Ekstrak Etanol	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Heksana
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	Positif	Positif	Positif
Tanin	Positif	Positif	-
Saponin	Positif	-	-

Tabel 1 menunjukkan ekstrak etanol daun benalu petai mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, tanin, dan saponin. Ekstrak etil asetat daun benalu petai mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid dan tanin. Ekstrak heksana daun benalu petai mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid.

Identifikasi Saponin

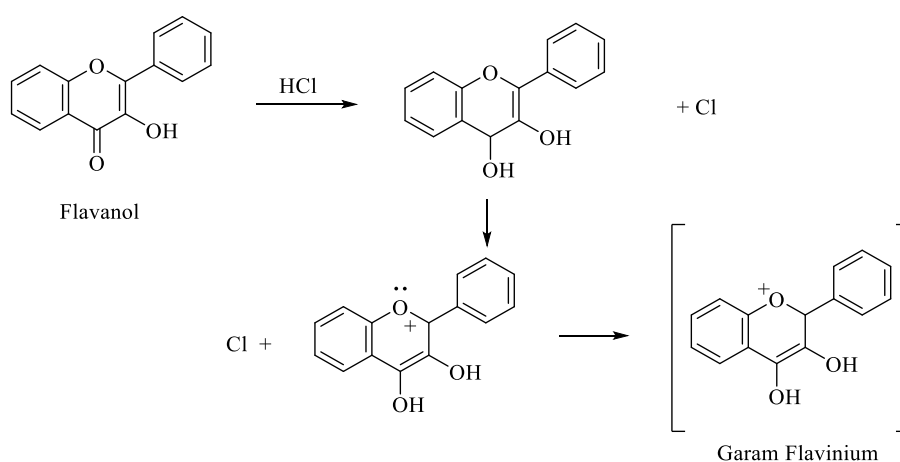
Saponin pada umumnya berada dalam bentuk glikosida sehingga cenderung bersifat polar (Harborne, 1987). Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Hal tersebut terjadi karena saponin memiliki gugus polar dan non polar yang akan membentuk misel. Saat misel terbentuk maka gugus polar akan menghadap ke luar dan gugus non polar menghadap ke dalam dan keadaan inilah yang tampak seperti busa (Robinson, 1995). Menurut Marlina. *et al.* (2005), adanya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya dengan reaksi seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi hidrolisis saponin dalam air

Identifikasi Flavonoid

Hasil identifikasi flavonoid menunjukkan warna jingga yang berarti positif adanya flavonoid. Logam magnesium dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi merah atau jingga (Tiwari *et al.*, 2011). Reaksi senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga dengan reaksi seperti Gambar 2.

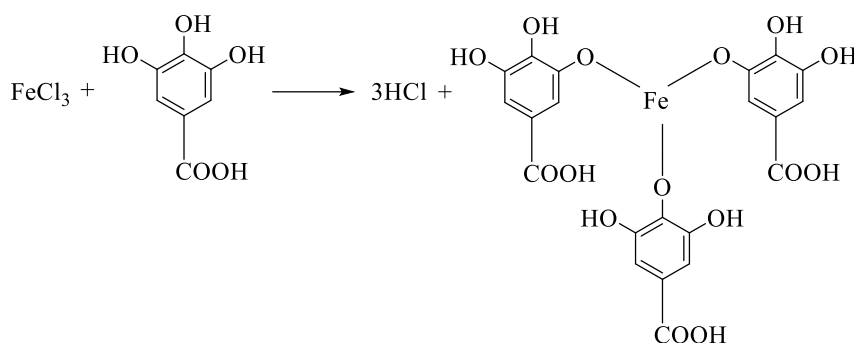


Gambar 2. Reaksi pembentukan flavilium

Umumnya flavonoid ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida yang menyebabkan senyawa ini lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, dan etil asetat. Bentuk glikosida memiliki warna yang lebih pucat dibandingkan bentuk aglikon. Flavonoid dalam bentuk aglikon sifatnya kurang polar, cenderung lebih mudah larut dalam pelarut kloroform dan eter (Hanani, 2016).

Identifikasi Tanin

Hasil identifikasi tanin menunjukkan warna hijau kehitaman karena penambahan FeCl₃ 1%. Perubahan warna terjadi karena senyawa tanin bereaksi dengan ion Fe³⁺ membentuk senyawa kompleks. Golongan tanin merupakan senyawa fenolik cenderung larut dalam air sehingga cenderung bersifat polar (Harborne, 1987). Reaksi tanin dengan FeCl₃ 1% ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi tanin dengan FeCl_3 1%

Gambar 3 menunjukkan bahwa terjadi ikatan kovalen koordinasi pada senyawa kompleks antara ion atau Fe dengan atom O pada senyawa tanin (senyawa fenolik). Secara umum senyawa yang pembentukannya melibatkan pembentukan ikatan kovalen koordinasi dianggap sebagai senyawa koordinasi, senyawa koordinasi merupakan senyawa yang melibatkan pembentukan ikatan kovalen koordinasi antara ion logam atau logam dengan atom non logam (Mabruroh, 2015).

Atom Fe merupakan atom logam, sedangkan atom O dari senyawa tanin merupakan atom nonlogam. Atom Fe adalah atom pusat dari senyawa kompleks tersebut yang menerima donor elektron, sedangkan atom O merupakan atom donor yang memberikan elektron pada atom pusat Fe. Atom donor terdapat pada suatu ion atau molekul netral. Ion dan molekul netral yang memiliki atom-atom donor yang dikoordinasikan pada atom pusat disebut dengan ligan. Ligan O dari senyawa tanin memiliki pasangan elektron bebas (PEB). Atom O tersebut bertindak sebagai basa lewis yang mendonorkan PEB pada atom pusat Fe (Effendy, 2007).

Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol

Metode BSLT adalah salah satu metode untuk menentukan kemampuan sifat toksik suatu senyawa yang dihasilkan dari ekstrak tumbuhan terhadap sel. Larva udang *Artemia salina* Leach digunakan pada metode ini sebagai bioindikator. Larva yang digunakan berumur 48 jam, karena menurut McLaughlin dan Roger (1998) kondisi larva yang tepat untuk uji hayati yaitu pada usia 48 jam, karena anggota tubuh larva

sudah lengkap (Muaja, 2013). Menurut Meyer *et al.* (1982) metode ini digunakan karena lebih murah, mudah, cepat dan hasilnya akurat. Selain ini telah terbukti memiliki hasil yang berkorelasi dengan kemampuan sitotoksik senyawa anti kanker.

Prinsip metode ini adalah kegiatan farmakologi dalam ekstrak tumbuhan yang diwujudkan sebagai racun pada larva udang *Artemia salina Leach* yang baru ditetaskan. Ekstrak yang diteliti berawal dari tumbuhan yang diuji, ekstrak diperoleh dari penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih agar zat yang diinginkan larut (Meyer *et al.*, 1982). Menurut (Mc Laughlin, 1998) dalam pengamatan bioaktivitas ini dilakukan berdasarkan nilai *Lethal Concentration 50 %* (LC_{50}). Apabila $LC_{50} < 30$ ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi mengandung senyawa bioaktif antikanker. Meyer (1982) menyebutkan tingkat toksisitas suatu ekstrak; $LC_{50} \leq 30$ ppm = sangat toksik; $31 \text{ ppm} \leq LC_{50} \leq =$ toksik; dan $LC_{50} > 1000$ ppm = tidak toksik.

Konsentrasi ekstrak yang diuji dalam penelitian ini untuk ekstrak etanol, etil asetat, dan heksana daun benalu petai adalah 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Penelitian ini juga dibuat konsentrasi 0 ppm sebagai kontrol negatif, tanpa penambahan ekstrak. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC_{50} (*lethal concentration*) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. BSLT dengan metode Meyer menggunakan 10-15 ekor larva udang pada setiap botol uji yang kemudian ditambahkan ekstrak kasar daun benalu petai dari masing-masing pelarut. Percobaan dilakukan menggunakan tiga konsentrasi ekstrak uji. Tabel 2 menunjukkan hasil penelitian pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun benalu petai terhadap kematian rata-rata larva udang *Artemia salina Leach*.

Tabel 2. Pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun benalu petai terhadap kematian rata-rata larva udang *Artemia salina* Leach.

Ekstrak	K (ppm)	Data awal			Jml D1	M	H	AM	AH	AM/ (AM+AH)	Mortalitas (%)	LC ₅₀ (ppm)
		larva (ekor)										
Heksana	10	10	11	12	33	1	32	1	63	0,016	1,56	185,44
	100	12	11	11	34	5	29	6	31	0,162	16,22	
	1000	11	10	11	32	30	2	36	2	0,947	94,74	
Etil Asetat	10	11	10	10	31	21	10	21	30	0,412	41,18	22,24
	100	11	10	10	31	19	12	40	20	0,667	66,67	
	1000	10	10	11	31	23	8	63	8	0,887	88,73	
Etanol	10	11	10	11	32	18	14	18	16	0,529	52,94	3,97
	100	10	10	10	30	28	2	46	2	0,958	95,83	
	1000	10	10	10	30	30	0	76	0	1	100	

Keterangan:

K = konsentrasi.

Jml D1 = data awal larva (ekor).

M = mati.

H = hidup.

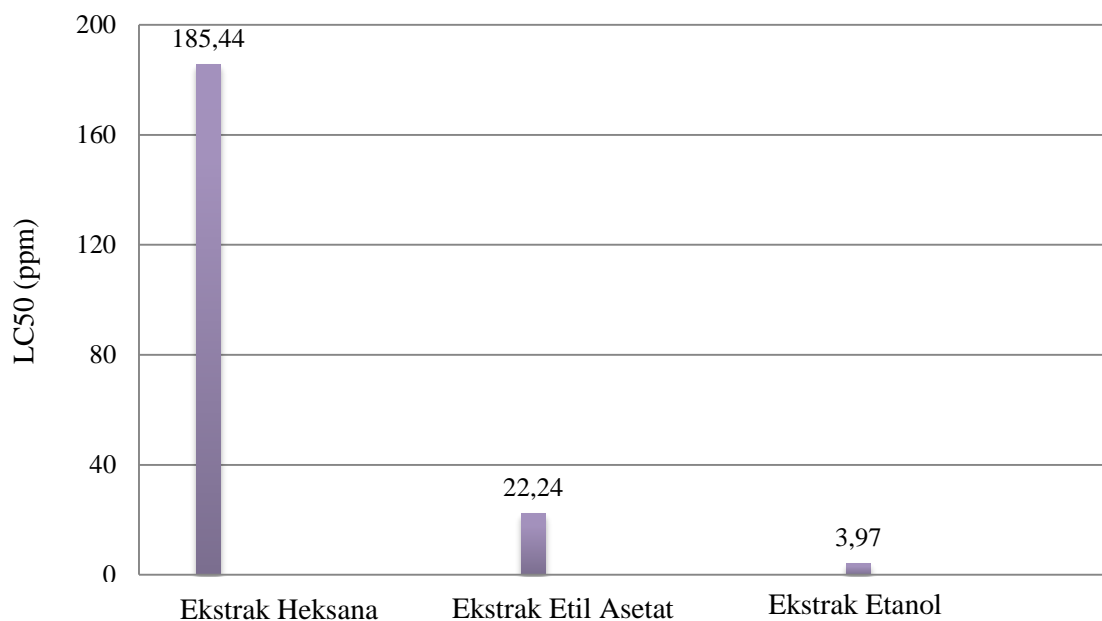
AM = akumulasi mati.

AH = akumulasi hidup.

LC₅₀ = konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam.

Hasil uji BSLT pada Tabel 2 menunjukkan angka kematian larva udang *Artemia salina* Leach pada ekstrak etanol daun benalu petai lebih besar dengan nilai LC₅₀ 3,97 ppm dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dengan nilai LC₅₀ 22,24 ppm dan ekstrak heksana dengan nilai LC₅₀ 185,44 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun benalu petai terbukti mempengaruhi tingkat perkembangbiakan larva udang *Artemia salina* Leach setelah masa inkubasi 24 jam dengan toksisitas yang sangat tinggi. Toksisitas metabolit sekunder tanaman berkaitan dengan kemampuan pertahanan diri

tanaman tersebut terhadap predator seperti serangga, mikroorganisme, hewan ataupun tanaman predator lainnya. Mekanisme pertahanan diri tersebut kemungkinan dengan jalan melindungi organ target maupun dengan jalan menginhibisi proses pembelahan sel yang telah terkena mikroba patogen (Cutler *et al.*, 2000).



Gambar 4. Perbandingan LC₅₀ ekstrak kasar daun benalu petai

Perbedaan nilai LC₅₀ ekstrak uji dari masing-masing ekstrak digambarkan dengan diagram batang pada Gambar 4. Gambar ini menunjukkan bahwa nilai LC₅₀ paling rendah pada setiap ekstrak diperoleh dari ekstrak etanol dan nilai LC₅₀ paling tinggi diperoleh dari ekstrak heksana. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol membutuhkan dosis lebih kecil untuk dapat menimbulkan toksisitas atau lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan ekstrak heksana. Perbedaan toksisitas ini terlihat sebanding jumlah rendemen ekstrak etanol yang lebih banyak dibanding jumlah rendemen ekstrak etil asetat dan ekstrak heksana. Perbedaan kadar metabolit sekunder yang terekstraksi tersebut diperkirakan sebanding dengan tingkat toksisitasnya. Hal ini memastikan bahwa senyawa metabolit sekunder di dalam ekstrak etanol daun benalu petai merupakan senyawa metabolit sekunder aktif dengan terdapatnya hubungan

signifikan antara jumlah metabolit sekunder yang tersari dengan nilai LC₅₀ yang diperoleh.

Meskipun toksisitas ekstrak kasar n-heksana dan etil asetat kurang dari ekstrak kasar etanol, berdasarkan studi yang dilakukan Meyer (1982) senyawa kimia dikatakan berpotensi aktif bila mempunyai nilai LC₅₀ kurang dari 1000 ppm. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak kasar etil asetat dan n-heksana berpotensi aktif karena nilai LC₅₀ yang dihasilkan kurang dari 1000 ppm.

4. KESIMPULAN

Nilai toksisitas ekstrak daun benalu petai (*Dendrophthoe praelonga* (Blume) Miq.) untuk ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol dinyatakan sebagai LC₅₀ berturut-turut 3,97 ppm, 22,24 ppm, dan 185,44 ppm. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol memiliki aktivitas toksisitas tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Cutler SJ, & Cutler H. 2000. *Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals. Boca Raton USA, CRC Press. A, 2000; 1-13, 17-22, 73-92.*
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I. Malang: Banyu Media Publishing.*
- Hanani E. 2016. *Analisis Fitokimia. Jakarta: EGC.*
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia II, (Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro, penerjemah). Bandung: ITB.*
- Lisdawati V, Wiryowidagdo S, & Kardono LBS. 2006. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa). Bul. Penelitian Kesehatan, vol 34, No3, 111-118.*
- Mabruroh AI. 2015. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rumput Bambu (Lophatherum gracile Brongn) dan Identifikasinya [skripsi]. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.*
- Marliana. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium Edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi 3(1):26-31.*

- Mc Laughlin JL, & Rogers LL. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Information Journal*. Vol 32: 513-524.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, & McLaughin JL. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medica*.
- Muaja AD. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan metode soxhletasi [Skripsi]. Manado: FMIPA UNSRAT.
- Robinson T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. Bandung: Penerbit ITB.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, & Kaur H. 2011. Phytochemical Screening and Extraction. *Internationale Pharmaceutica Scienci*. 1(1):1-9.